Aus dem chemischen Laboratorium (Priv. Doz. Dr. W. Schuler)
der Med. Univ. Klinik, Erlangen, (Direktor Prof. Dr. R. Greving*)

Über die Adrenalinsynthese im Reagenzglase unter physiologischen Bedingungen.

III. Mitteilung.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexanders-Universität Erlangen

vorgelegt von

Herbert Bernhardt
aus Charlottenburg.

Tag der mündlichen Prüfung: 27. IV. 1937.

*) Die Arbeit wurde in der Zeit des Direktorates von Prof. Dr. L. R. Müller durchgeführt.

Würzburg 1937
Buchdruckerei Richard Mayr

1938/105

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Erlangen.

Dekan: Geh.-Rat Prof. Dr. F. Jamin
Referent: Priv.-Doz. Dr. W. Schuler

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen Eltern.

Einteilung.

A. Allgemeiner Teil.

B. Besonderer Teil.

1. Versuche zur Auslösung der Adrenalinsynthese durch Vorbehandlung der Tiere.
   a) Versuch mit Hypophysenvorderlappen-Extrakt.
   b) Versuche mit Insulin.
   c) Versuche mit Nikotin.
   Theoretisches über das Versagen der Adrenalinsynthese zu bestimmten Zeiten.
2. Versuche zur Isolierung von im Reagenzglas unter physiologischen Bedingungen synthetisiertem Adrenalin.

C. Versuchsteil.
Zusammenfassung.
Literatur.

A.

Schon seit 2 Jahrzehnten bemüht man sich, die auf Grund chemischer Beziehung angenommene Entstehung des Adrenalins aus Tyrosin im lebenden Organismus experimentell nachzuweisen. Man kannte rein theoretisch den Chemismus der von der Aminosäure Tyrosin zum Adrenalin führt, sowie die Zwischenprodukte für diese Synthese (vgl. Schema bei [1])). Niemals aber gelang es bisher auf physiologischem Wege aus Tyrosin oder den hypothetisch angenommenen Zwischenprodukten Adrenalin zu synthetisieren. Zwei Mängel sind für das Mißlingen dieser Versuche verantwortlich zu machen: man hatte erstens außer Acht gelassen, daß diese Synthese eine Funktion des lebenden Gewebes sein könnte und zweitens übersah man, daß die Adrenalinsynthese, als ein aus mehreren Teilreaktionen zusammengesetzter Vorgang, auch in verschiedenen Organen ablaufen könnte.

Die Frage nach dem Mechanismus der Adrenalinbildung in der Nebenniere wurde erneut von W. Schuler[1]) aufgegriffen und nach der Warburg'schen Gewebsschnittmethode bearbeitet. W. Schuler und A. Wiedemann[1]) untersuchten verschiedene Substanzen, die theoretisch als Adrenalinvorstufen in Frage kommen, indem sie diese in physiologischer Lösung mit Nebennierenschnitten von Meerschweinchen behandelten. Die Lösung wurde dann mit Hilfe der für Adrenalin bekannten Farbreaktion mit Phosphorwolframsäure nach Folin kolorimetrisch auf neuentstandenes Adrenalin untersucht. Von den untersuchten Substanzen (Dioxyphenylalanin, Tyrosin, Tyramin, Hordenin, Phenyloxyäthylamin, Phenyläthylamin, Phenylalanin) ergab nur Tyramin nach Behandlung mit Nebenniere eine für Adrenalinneubildung sprechende Farbvertiefung gegenüber dem Leerversuch ohne Tyramin. Zur weiteren Charakterisierung der aus Tyramin neugebildeten Substanz trug der positive Ausfall der an Katzen ausgeführten Blutdruckversuche bei, die durch intavenöse Injektion der Versuchslösungen ausgeführt wurden. Die Blutdruckkurve des Tyraminvollversuches zeigte gegenüber dem Leerversuch eine in ihrem Verlauf für erhöhten Adrenalingehalt charakteristische Form. Damit gelang es W. Schuler und A. Wiedemann[1]) erstmals unter physiologischen Bedingungen im Reagenzglase aus Tyramin eine Substanz zu synthetisieren, die mit größter Wahrscheinlichkeit Adrenalin ist. Weiterhin konnten die günstigsten Reaktionsbedingungen (Temperatur, Konzentration, Lösungsmittel, Reaktionszeit) für

diese Synthese ermittelt werden. Bei diesen Untersuchungen ergaben sich 2 neue Aufgaben, die eine ergänzende Bearbeitung erforderten:

1. die Ermittlung des Versagens der Adrenalinsynthese zu bestimmten Zeiten,
2. die bei unseren Versuchen in vitro neugebildete Substanz chezu isolieren.

1. W. Schuler und A. Wiedemann[1]) machten bei ihren Versuchen über die Adrenalinsynthese aus Tyramin die Erfahrung, daß diese Synthese trotz strengster Einhaltung völlig gleicher Versuchsbedingungen nicht zu jeder Zeit gelang. In den Monaten November bis Januar war es ihnen unmöglich eine Synthese von Adrenalin mit überlebendem Gewebe nachzuweisen. Bei Fortsetzung der Versuche habe ich die gleiche Erfahrung von März bis Juni gemacht. Das Unvermögen der Nebennieren zur Adrenalinneubildung zu bestimmten Zeiten hat uns bei Durchführung unserer Versuche nicht nur große Schwierigkeiten gemacht, sondern erscheint uns als ein interessantes biologisches Problem, in Sonderheit auch wegen der von G. Mansfeld[2]) gemachten prinzipiell gleichartigen Beobachtung bei seinen Untersuchungen über die Thyroxinwirkung. Um diesem Problem näherzukommen haben wir zahlreiche Versuche durchgeführt im Hinblick auf die Frage, ob es sich bei unserer Beobachtung um ein jahreszeitlich bedingtes Versagen mangels Adrenalinbedarfes handelt oder ob andere Gründe dafür verantwortlich zu machen sind.

Wir versuchten daher durch Vorbehandlung der Tiere die Nebenniere derselben zu einer Adrenalinsynthese im Reagenzglase unter physiologischen Bedingungen auch in der Zeit zu zwingen, in der diese Reagenzglassynthese ohne Vorbehandlung nicht möglich ist.

2. W. Schuler und A. Wiedemann[1]) haben die im Reagenzglase mit überlebenden Nebennierenschnitten neugebildete Substanz kolorimetrisch und biologisch, d. h. mit Hilfe des Blutdruckversuches, als Adrenalin oder als eine diesem sehr nahestehende Substanz charakterisiert. Ein unwiderlegbarer Beweis für diese Behauptung wäre allerdings nur die chemische Isolierung dieser in unseren Versuchen neugebildeten Substanz.

Wir versuchten daher die bei unseren Versuchen in vitro neugebildete Substanz chemisch zu isolieren und dadurch als Adrenalin zu kennzeichnen.

Die Isolierung erschien uns ihrer Wichtigkeit wegen mehrerer Versuche wert, jedoch in Anbetracht der geringen Mengen des von uns synthetisierten Adrenalins und der großen Unbeständigkeit desselben von vorneherein wenig aussichtsreich.

B.

1. Versuche zur Auslösung der Adrenalinsynthese durch Vorbehandlung der Tiere.

Wir gingen von folgenden Überlegungen aus: vermehrte Adrenalinbildung könnte verschiedene Ursachen haben: der Impuls für eine Neubildung von Adrenalin könnte durch einen hormonalen Reiz ausgeübt werden. Die Neubildung von Adrenalin könnte aber auch von der im Nebennierenmark vorhandenen, d. h. mit anderen Worten, der Menge des in die Blutbahn abgegebenen Adrenalins abhängig sein; vermehrte Ausschüttung, verminderter Gehalt des Bildungsorganes und dadurch Tendenz zur Neubildung von Adrenalin.

a) Um nun zu der Zeit (März—Juni), in der Nebennieren unvorbehandelter Tiere im Reagenzglase keine Adrenalinbildung aus Tyramin nachweisen ließen, eine Tendenz zur Adrenalinneubildung bei diesen Tieren zu erzeugen, haben wir Meerschweinchen mit einem **Extrakt des Hypophysenvorderlappens** behandelt.

Dieser Extrakt enthält nach K. J. Anselmino, L. Herold u. F. Hoffmann[3]) ein adrenotropes Hormon*), das in der Nebenniere gesteigerte Markzellentätigkeit hervorruft. Den Meerschweinchen wurden innerhalb von 24 Stunden 4 mal je 1 ccm dieses Extraktes s.c. injiziert. Zwei Stunden nach der letzten Injektion wurde das Tier getötet, die Nebennieren entnommen und versucht, ob Nebennierenschnitte derartig vorbehandelter Tiere aus Tyramin im Reagenzglas nach W. Schuler und A. Wiedemann[1]) vermehrt Adrenalin zu synthetisieren vermögen. Die Versuche zeigten, **daß sich auch mit Nebennierenschnitten derartig vorbehandelter Tiere keine Adrenalinsynthese nachweisen läßt, wie es zu dieser Jahreszeit bei den unvorbehandelten Tieren der Fall ist.**

b) Außer der hormonalen Beeinflussung der Adrenalinneubildung in der Nebenniere haben wir des weiteren versucht, die Adrenalinneubildung der Nebennieren von Meerschweinchen durch vorhergehende **vermehrte Adrenalinausschüttung** anzuregen. F. Meythaler[4]) fand nach Injektion mehrerer kleiner Insulindosen eine kompensatorische vermehrte Adrenalinausschüttung aus den Nebennieren. Auch vertritt C. V. Noorden[5]) die Ansicht, daß das Insulin ein Antagonist des Adrenalins sei. Durch Injektion von kleinen Insulindosen glaubten wir daher die Nebenniere primär zur erhöh-

---

*) Für die Überlassung von Hypophysenvorderlappenpulver und die liebenswürdige Beratung bei Herstellung des Extraktes sprechen wir Herrn Priv.-Doz. Dr. K. J. Anselmino und F. Hoffmann unseren verbindlichsten Dank aus.

ten Abgabe von Adrenalin, sekundär zur Restitution des ausgeschütteten Adrenalins veranlassen zu können. Wir haben Meerschweinchen mit zwei bis vier Einheiten Insulin s.c. im Abstand von 15 Minuten bis zum hypoglykämischen Schock behandelt, anderen beim Auftreten hypoglykämischer Erscheinungen Traubenzucker und dann erneut kleine, verträgliche Dosen Insulin injiziert. Im oder kurz nach dem hypoglykämischen Schock wurden die Tiere getötet, die Nebennieren entnommen und versucht, mit Nebennierenschnitten derartig vorbehandelter Tiere aus Tyramin im Reagenzglas vermehrt Adrenalin zu synthetisieren. Die Versuche zeigten, **daß sich auch mit Nebennierenschnitten Insulinvorbehandelter Tiere keine Adrenalinsynthese nachweisen läßt, wie es zu dieser Jahreszeit bei den unvorbehandelten Tieren der Fall ist.**

c) Unter den Stoffen, die im Sinne einer Adrenalinausschüttung auf die Nebenniere wirken, ist ferner nach Trendelenburg[6]) das Nikotin bekannt*). Um durch diesen besonders starken Reiz eine für die Adrenalinsynthese günstige Reaktionslage der Nebenniere zu erzielen, haben wir einem kräftigen Meerschweinchen Nicotinum hydrochloricum, angefangen von 0,001 mg bis 0,18 mg pro Injektion, im Ganzen 0,42 mg auf 7 Tage verteilt s.c. injiziert. Drei Stunden nach der letzten Injektion wurde das Tier getötet und die Nebennieren auf die Fähigkeit aus Tyramin Adrenalin zu synthetisieren geprüft. Dieser Versuch zeigte, **daß sich auch mit Nebennierenschnitten dieses Nicotin-vorbehandelten Tieres keine Adrenalinsynthese nachweisen läßt, wie es zu dieser Jahreszeit bei den unvorbehandelten Tieren der Fall ist.**

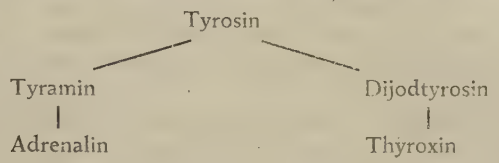
Theoretisches über das Versagen der Adrenalinsynthese zu bestimmten Zeiten:

G. Mansfeld[2]) hatte bei seinen Untersuchungen über „Art und Ort der Thyroxinwirkung" mit ähnlichen Schwierigkeiten zu kämpfen. DieThyroxinwirkung an überlebenden Organzellen versagte von Februar bis Juni, um dann mit Sicherheit wieder nachweisbar zu werden. G. Mansfeld nimmt an, daß „dieses Refraktärwerden der Organzellen durch die Inkretfunktion der Schilddrüse bedingt ist", doch stehen nähere Untersuchungen hierzu noch aus. Möglicherweise handelt es sich sowohl hier, als auch bei uns um die gleiche Erscheinung, die dann also ein physiologisches Geschehen darstellen würde.

---

*) Für diesen Hinweis sind wir Herrn Prof. Dr. K. Schübel, Pharmakol. Institut der Universität Erlangen, zu besonderem Dank verpflichtet.

Es ist deshalb vielleicht gerechtfertigt, wenn man als weitere Arbeitshypothese folgende Möglichkeit ins Auge faßt. Sowohl Adrenalin mit Tyramin als Zwischenprodukt, wie auch Thyroxin mit Dijodtyrosin als Zwischenprodukt haben Tyrosin zur Muttersubstanz. Dies soll folgendes Schema veranschaulichen:



Es wäre nun sehr wohl daran zu denken, daß in den Monaten der relativen Thyroxinunempfindlichkeit, die mit der Zeit der Unfähigkeit der Nebennierenzellen zur Adrenalinsynthese aus Tyramin mit überlebendem Gewebe zusammenfällt, das dem Organismus zur Verfügung stehende Tyrosin zur Bildung von Tyramin bezw. Adrenalin benötigt wird. Das Mißlingen unserer Versuche könnte dann durch den an sich schon hohen Eigengehalt der Nebennierenzellen an Tyramin erklärt werden. Dieser hohe Eigengehalt dürfte Ursache dafür sein, daß die Nebennieren zugesetztes Tyramin nicht mehr zu Adrenalin zu synthetisieren vermögen. Die Beobachtung von G. Mansfeld[2]), der von einer Thyroxinunempfindlichkeit der Gewebszellen zur gleichen Jahreszeit berichtet, wäre dann durch den Verbrauch des Tyrosins für die Tyramin- und damit Adrenalinbildung im Organismus zu erklären.

Nebenniere und Schilddrüse zeigen bekanntlich einen Synergismus, der es wahrscheinlich macht, daß sich Adrenalin und Thyroxin in ihrer Wirkung auf den Organismus gegenseitig abwechseln können. Beide Hormone wirken gleichsinnig auf die vegetative Innervation, Säure—Basen-Haushalt, Blutbild, Körperwärme, Grundumsatz und Blutzucker. Außerdem hat eine gesteigerte Neubildung von Thyroxin bei Basedow nach klinischer Erfahrung eine herabgesetzte Bildung von Adrenalin zur Folge. Diese Tatsachen stützen die von uns eingangs aufgestellte Arbeitshypothese einer Mittelstellung von Tyrosin, das laut dem gegebenen Schema entweder zur Thyroxinsynthese oder aber zur Adrenalinsynthese verwendet wird.

2. Versuche der Isolierung von im Reagenzglase unter physiologischen Bedingungen synthetisiertem Adrenalin.

Der einwandfreie Beweis für die Adrenalinbildung aus Tyramin mit Hilfe überlebender Nebennierenschnitte wäre erbracht, wenn es möglich wäre, das neugebildete Adrenalin chemisch zu isolieren und als solches zu identifizieren. Wir gingen deshalb in der übli-

chen von uns erprobten Weise vor, indem wir zu diesmal relativ großen Mengen von Organschnitten Tyramin in der optimalen Konzentration von 10 mg% zusetzten. Nach zweistündiger Reaktion im Thermostaten versuchten wir das in der Lösung enthaltene Adrenalin nach der Methode von Abderhalden[7]) zu isolieren. Wir hofften auf diese Weise wenigstens einen wägbaren Unterschied zwischen Voll- und Leerversuch feststellen zu können, wenn auch eine Identifizierungsmöglichkeit des reinen Adrenalins nicht zu erwarten war.

Bei einem Versuch verwendeten wir die Nebennieren von 19 Meerschweinchen, bei einem nächsten Versuch die Nebennieren von 2 Kälbern und 2 Rindern, die sofort nach der Tötung der Tiere denselben entnommen wurden. Nach zweistündigem Schütteln der geschnittenen Organe mit Tyramin in Phosphatpufferlösung bei 38° unter Sauerstoff, entnahmen wir jedem Versuchsglas eine gleiche Probe, um nach Folin auf Adrenalin zu prüfen. Den Rest verarbeiteten wir auf Adrenalin, indem wir mit Bleiazetat enteiweißten und aus dem Filtrat das Adrenalin durch Ammoniak zu fällen versuchten. Der ganze Vorgang der Adrenalinisolierung wurde unter CO_2-Atmosphäre ausgeführt.

Nach dem Ausfall der Folin'schen Reaktion war im Vollversuch vermehrt Adrenalin. Nach der Isolierung konnte jedoch — wohl wegen verschiedener Beimengungen — zwischen Voll- und Leerversuch kein wägbarer Unterschied gefunden werden. Doch muß erwähnt werden, daß auch bei Anwendung der Nebennieren von Rindern und Kälbern in der Vollversuchslösung mit Ammoniak eine stärkere Rotfärbung und außerdem eine intensivere Folin'sche Reaktion auftrat als im Leerversuch; beide Reaktionen sprechen für eine Adrenalinneubildung aus Tyramin in diesen Versuchen.

C.

Versuchsteil.

1. Auslösung der Adrenalinsynthese durch Vorbehandlung der Tiere.

Versuchsbeispiele.

a) Injektion von Hypophysenvorderlappenextrakt:

2 gr Aceton-Trockenpulver von Hypophysenvorderlappen wurden mit 12 ccm aqua dest. 2 Std. bei 38° im Thermostaten geschüttelt. Nach 2 Stunden wurde die Lösung zentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit abpipettiert und mit aqua dest. auf 4 ccm aufgefüllt. Einem jungen kräftigen Meerschweinchen wurde jeweils 1 ccm des Extraktes zu folgenden Zeiten s.c. injiziert: 9 Uhr, 13 Uhr, 19 Uhr und 9 Uhr. Zwei Stunden nach der letzten Injektion wurde das Tier getötet, die Nebennieren entnommen und von diesen ca. 1 mm dicke Schnitte mit dem Rasiermesser angefertigt. Die Schnitte wurden entsprechend der Anzahl der Versuche in gleiche Teile geteilt, gewogen, in physiologischer NaCl-Lösung gewaschen und quantitativ in Rundkölbchen mit 2,5 ccm Phosphatpuffer übergeführt. Ein Kölbchen (Leerversuch) war ohne, ein anderes (Vollversuch) mit Zusatz von 10 mg% Tyramin. Nach 2 Stunden Schütteln im Thermostaten bei 38° unter Sauerstoff wurden 2 ccm jeder der Lösungen abpipettiert, mit 0,5 ccm 1/10 n HCl, 0,5 ccm Uranylacetatlösung (1,55%) und 7 ccm aqua dest. versetzt. Nach dem Filtrieren wurden zu je 4 ccm des Filtrats 1,8 ccm gesättigter Sodalösung und 0,2 ccm Phosphorwolframsäure gegeben. Nach 5 Minuten wurde der Grad der Blaufärbung im Stufenphotometer abgelesen und der Adrenalingehalt an einer Eichkurve (nach W. Schuler und A. Wiedemann[1])) abgelesen.

Vers. Nr.	Lösungsmittel	Lösungsmenge in ccm	Organmenge in mg	Tyraminzusatz in mg %	Adrenalin	
					Gehalt in mg %	Zunahme in mg %
1a	Phosph. Puffer (7,2)	2,5	100	–	1,18	–
1b	„	2,5	100	10	1,23	0,05

b) Injektion von Insulin:

a) Einem jungen sehr kräftigen Meerschweinchen werden von 9.45 Uhr bis 12.45 Uhr halbstündlich 4 E. Insulin s.c. injiziert. ½ Stunde nach der letzten Injektion wird das Tier geschlachtet,

die Nebennieren sofort entnommen und der Versuch in derselben Weise ausgeführt wie bei a).

Vers. Nr.	Lösungsmittel	Lösungsmenge in ccm	Organmenge in mg	Tyraminzusatz in mg %	Adrenalin- Gehalt in mg %	Adrenalin- Zunahme in mg %
1a	Krebslösung	2,5	40	–	0,70	–
1b	„	2,5	40	10	0,80	0,10
2a	Phosph. Puffer (7,2)	2,5	40	–	0,80	–
2b	„	2,5	40	10	0,83	0,03

b) Ein junges, kräftiges Meerschweinchen erhält von 9.35 Uhr ab halbstündlich 4 E. Insulin. 11.25 Uhr treten leichte hypoglykämische Erscheinungen auf und das Tier bekommt deshalb eine Injektion von 2 ccm 30% Traubenzuckerlösung s.c. Ab 11.25 Uhr bis 12.45 Uhr wieder halbstündliche Injektion von 4 E. Insulin. Das Tier wird um 13 Uhr getötet und die Organe entnommen. Versuchsansatz wie bei a).

Vers. Nr.	Lösungsmittel	Lösungsmenge in ccm	Organ menge in mg	Tyraminzusatz in mg %	Adrenalin- Gehalt in mg %	Adrenalin- Zunahme in mg %
1a	Krebslösung	2,5	105	–	0,83	–
1b	„	2,5	105	10	0,83	–
2a	Phosph. Puffer (7,2)	2,5	105	–	0,83	–
2b	„	2,5	105	10	0,83	0,02

c) Injektion von Nikotin:

Einem jungen, kräftigen Meerschweinchen wurde Nicotinum hydrochlor. s.c. injiziert: am 1. Tag: 0,001 mg, 2. Tag: 0,004 mg, 3. Tag: 0,008 mg, 4. Tag: 0,032 mg, 5. Tag: 0,064 mg, 6. Tag: 0,128 mg, 7. Tag: 0,180 mg. 3 Stunden nach der letzten Injektion wurde das Tier getötet und die Nebennieren entnommen. Versuchsansatz wie bei a).

Vers. Nr.	Lösungsmittel	Lösungsmenge in ccm	Organmenge in mg	Tyraminzusatz in mg %	Adrenalin- Gehalt in mg %	Adrenalin- Zunahme in mg %
1a	Phosph. Puffer (7,2)	2,5	90	–	0,83	–
1b	„	2,5	90	10	0,83	–
2a	„	2,5	90	–	1,1	–
2b	„	2,5	90	10	1,18	0,08

2. Versuche der chemischen Isolierung des aus Tyramin im Reagenzglas unter physiologischen Bedingungen neugebildeten Adrenalins.

a) Zur Adrenalinsynthese aus Tyramin wurden die Nebennieren von 19 jungen, kräftigen Meerschweinchen benützt.

Ansatz.

Leerversuch	Vollversuch.
50 ccm Phosph.P. (7,2)	50 ccm Phosph.P. (7,2)
1,82 g Nebennierenschnitte	1,82 g Nebennierenschnitte
	5 mg Tyramin

Die Versuchslösungen wurden 2 Stunden unter Sauerstoff bei 38° im Thermostaten geschüttelt.

Zur Adrenalinbestimmung nach Folin wurde jedem Kölbchen 0,4 ccm entnommen und in einem Reagenzglas — Voll- und Leerversuch getrennt — vereinigt. Jedes Reagenzglas enthielt zur Stabilisierung des Adrenalins 0,5 ccm n/10 HCl. Zur Enteiweißung wurden 0,5 ccm Uranylacetat zugegeben und mit 7 ccm H_2O verdünnt. Nach dem Filtrieren wurde die kolorimetrische Bestimmung des Adrenalins nach Folin im Stufenphotometer durchgeführt. Es ergab sich ein Adrenalingehalt von:

Leerversuch: 1,65 mg% **Vollversuch: 2,25 mg%**

Der Rest der Leer- und Vollversuche wurde mit n/10 HCl angesäuert, das Gewebe entfernt und 3 mal mit aqua dest. nachgewaschen. Fällung mit Bleiacetat bis keine Trübung mehr auftrat. Abfiltrieren des weißen Niederschlages und Durchleiten von H_2S durch das Filtrat. Entfernung des ausgefallenen Schwefelbleis durch Filtrieren und Einengen des Filtrats im Vakuum bis auf ca. 2 ccm. Die eingeengte Flüssigkeit wurde mit Hilfe einer Kältemischung gekühlt und dann mit einigen Tropfen konz. Ammoniaks versetzt. Die Flüssigkeit färbte sich sofort braunrot und nach einiger Zeit trat ein feiner bräunlicher Niederschlag auf. Die Flüssigkeit wurde durch ein Porzellanfilter gesaugt und der im Filter gebliebene Rückstand mit verdünnter H_2SO_4 gewaschen. Vor und nach dem Versuch wurde der Porzellanfilter gewogen. Es ergaben sich folgende Werte:

	Leerversuch:	Vollversuch:
Filter allein	6,6145 g	7,0653 g
mit Substanz	6,6245 g	7,0748 g
Differenz	0,0100 g	0,0095 g

b) Zur Adrenalinsynthese aus Tyramin wurden die Nebennieren von 2 Kälbern und 2 Rindern benützt.

Ansatz:

Leerversuch:	Vollversuch:
125 ccm Phosph.P. (7,2)	125 ccm Phosph.P. (7,2)
15,6 g Nebennierenschnitte	15,6 g Nebennierenschnitte
	12,5 mg Tyramin

Nach der Reaktion im Thermostaten ergab sich nach Folin folgender Adrenalingehalt:

Leerversuch: 3,60 mg% **Vollversuch: 3,85 mg%**

Anschließend chemische Isolierung des Adrenalins wie unter a). Es ergaben sich folgende Werte:

	Leerversuch:	Vollversuch:
Filter allein	6,6141 g	7,0698 g
mit Substanz	6,6160 g	7,0650 g
Differenz	0,0019 g	0,0012 g

Zusammenfassung.

1. Aus unseren bisherigen Untersuchungen, sowie aus den Beobachtungen, welche schon W. Schuler und A. Wiedemann machten, müssen wir folgern, daß zu bestimmter Jahreszeit — nach unseren Versuchen bei einer Tierserie von November bis Januar, bei einer anderen Tierserie in der Zeit von März bis Juni — Umstände vorliegen, welche die Durchführung der Adrenalinsynthese aus Tyramin im Reagenzglas mit Hilfe überlebender Nebennierenschnitte in methodisch gleich durchgeführten Versuchen nicht gelingen lassen. **Die hier maßgeblichen Umstände waren auch durch Vorbehandlung der Tiere, deren Nebennieren zur Verwendung kamen, nicht zu beeinflussen. Weder ein direkter hormonaler Reiz, noch ein durch eine Adrenalinausschüttung indirekt gesetzter Reiz auf das Nebennierenmark, vermochten dasselbe in dem Sinne zu beeinflussen, aus Tyramin Adrenalin zu synthetisieren.** In der übrigen Zeit konnte eine derartige Fähigkeit ohne Vorbehandlung der Tiere reproduzierbar nachgewiesen werden.

2. Eine Isolierung in vitro neugebildeten Adrenalins aus Tyramin gelang nicht. Schuld daran trägt der auch nach Verwendung größerer Ansatzmengen geringe Unterschied in der Adrenalinmenge zwischen Voll- und Leerversuch, die geringe absolute Menge und die Unbeständigkeit des Adrenalins. Dagegen zeigten sich bei den Isolierungsversuchen im Vollversuch verstärkt auftretende Farbreaktionen, die für Adrenalin sprechen.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, an dieser Stelle meinem verehrten Lehrer Herrn Priv.Doz. Dr. W. Schuler auf das herzlichste zu danken. Ich durfte unter seiner Leitung nicht nur diese, sondern auch eine bereits in Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie von W. Schuler, H. Bernhardt und W. Reindel veröffentlichte Arbeit über „Die Tyraminbildung aus Tyrosin mit überlebenden Gewebsschnitten und deren Beziehung zu Adrenalinsynthese" durchführen. Auch danke ich Herrn Dr. W. Reindel, der mir als wissenschaftlicher Mitarbeiter von Herrn Priv.Doz. Dr. W. Schuler und als Chemiker manche wertvollen Ratschläge bei Durchführung meiner Arbeiten im Laboratorium geben konnte.

Literatur.

1. W. Schuler u. A. Wiedemann, Hoppe-Seyler's Z. 233, 235, (1935).
2. G. Mansfeld, Klin. Wchschr. 25, 884 (1935).
3. K. J. Anselmino, L. Herold u. F. Hoffmann, Arch. f. Gynäk. 158, 531 (1934).
4. F. Meythaler, Klin. Wchschr. 15, 542 (1935).
5. C. V. Noorden u. S. Jsaac, Die Zuckerkrankheit u. ihre Behandlung, S. 234 (1927), J. Springer, Berlin.
6. P. Trendelenburg, Die Hormone, ihre Physiologie u. Pharmakologie I, S. 328 (1929), J. Springer, Berlin.
7. Hoppe-Seyler-Thierfelder, Physiolog. u. path. chem. Analyse, S. 208 (1924), J. Springer, Berlin.

Lebenslauf.

Als Sohn des Ingenieurs Oswald Bernhardt und seiner Ehefrau Theresia geb. Schmela wurde ich am 8. Juli 1910 in Charlottenburg geboren. Die Volksschule besuchte ich in Erlangen, die Mittelschule in Dresden, wo ich am König-Georg-Gymnasium die Reifeprüfung bestand. Medizin studierte ich vorklinisch in München und Erlangen. Die ärztliche Vorprüfung legte ich am 5. März 1934 in Erlangen vollständig ab. Mein klinisches Studium erledigte ich in Erlangen, wo ich am 24. April 1937 die ärztliche Prüfung bestand.